

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-370089

(43)Date of publication of application : 22.12.1992

(51)Int.Cl.

C12N 1/02
B07C 5/342
C12M 1/00
G01N 15/10
G01N 21/53

(21)Application number : 03-169262

(71)Applicant : NIPPON STEEL CORP

(22)Date of filing : 14.06.1991

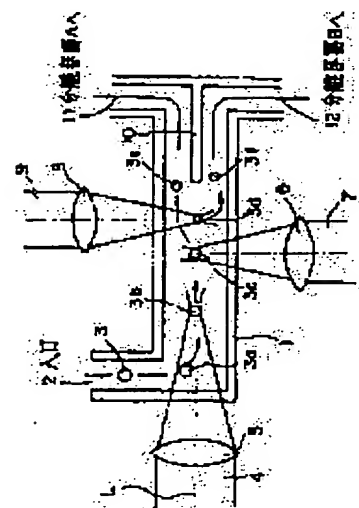
(72)Inventor : HORI MITSUHIRO

(54) SEPARATION OF FINE PARTICLE

(57)Abstract:

PURPOSE: To enable sure separation of fine particles in a complete non-contact state without causing the breakage of even a susceptible particle such as cell by selecting and separating the fine particles with a specific method using a focused laser beam.

CONSTITUTION: A solution containing different kinds of fine particles or cells (hereinafter called as fine particles including the cells) is passed through a flow system at a definite flow rate. A focused laser beam 4 is radiated to the fine particles 3 to move the fine particles 3 in a state to be aligned in a row on the optical axis L of the outgoing laser beam. The scattered light intensity is measured near the beam waist 3b to discriminate the kind of the individual fine particle. If the particle is of the desired one, said particle is irradiated with another focused laser beam 7 at a position 3c near the separation vessel and forced to flow toward the direction 11 of the separation vessel A. The desired kind of fine particles can be separated from different kind of particles by this process.



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平4-370089

(43) 公開日 平成4年(1992)12月22日

(51) IntCl. ⁸	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 1 2 N 1/02		7236-4B		
B 0 7 C 5/342		9244-3F		
C 1 2 M 1/00		Z 9050-4B		
G 0 1 N 15/10		Z 7005-2 J		
21/53		Z 7370-2 J		

審査請求 未請求 請求項の数 1 (全 4 頁)

(21) 出願番号 特願平3-169262

(22) 出願日 平成3年(1991)6月14日

(71) 出願人 000006655

新日本製鐵株式会社

東京都千代田区大手町2丁目6番3号

(72) 発明者 堀 満裕

神奈川県相模原市淵野辺5丁目10番1号

新日本製鐵株式会社第2技術研究所内

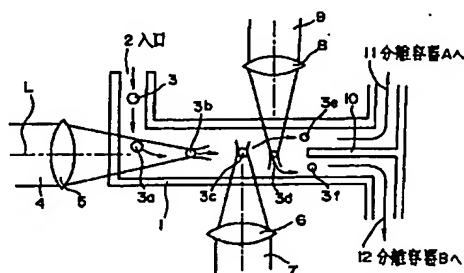
(74) 代理人 弁理士 半田 昌男

(54) 【発明の名称】 微粒子の分離方法

(57) 【要約】

【目的】 微粒子を壊さずに、非接触で分離することができる微粒子の分離方法を提供する。

【構成】 微粒子3はレーザービーム4と集光レンズ5によってレーザービーム4の光軸L上に一列に並べられ、移動する。ビームウエスト3bで散乱光強度を計測することにより微粒子3の粒径を判別し、この判別に応じて微粒子3が下流の位置3cあるいは3dに流れるときにレーザービーム7もしくはレーザービーム9のどちらか一方を点灯し、微粒子3に照射する。微粒子3は光の圧力によって流れの方向を変えられ、分離容器Aに通じる矢印11の方向あるいは分離容器Bに通じる矢印12の方向に振り分けられ、分離される。



(2)

特開平4-370089

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 異なる微粒子あるいは細胞（以下、細胞等も含めて微粒子と称す。）を含む溶液が一定流量で流れている流れ系において、集光したレーザビームを微粒子に照射し、微粒子をレーザの出射方向の光軸上に一列に並ぶように移動させ、ビームウエスト付近で散乱光強度を計測することにより、流れてきた個々の微粒子の違いを判別し、その結果、所望の微粒子である場合には、該微粒子が分離容器近くに流れてきたときに、別の集光されたレーザビームを該微粒子に照射することにより、該微粒子を特定の分離容器の方向に流れ込ませ、異なる微粒子から所望の微粒子を分離することを特徴とする微粒子の分離方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、非接触で細胞、高分子等の微粒子を分離、選別する方法に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 従来、微粒子を分離する方法として、フローサイトメトリーによる方法がある。この方法では、微粒子を含む溶液をノズルから振動させながら押し出すことによって液滴を飛ばし、この液滴にレーザ光を照射し液滴の蛍光、散乱光強度を計測することによって微粒子の大きさあるいは種類を判別する。そして、この情報をもとに必要とする微粒子が含まれる液滴を帯電させ、この液滴が分離容器前の高電圧に印加された電極板間を通過するときに液滴の飛び方向を変え、液滴を所定の分離容器に入れることにより、微粒子を分離するものである。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 しかしながら、上記のようなフローサイトメトリーによる微粒子の分離方法においては、微粒子を含む液滴が、ノズルから高速に押し出され、高速で分離容器に入るため、壊れ易い微粒子（たとえば、植物細胞のプロトプラスト等）の場合は、損傷を受ける可能性がある（鷲津、他：応用物理、第58巻、第3号、p.383（1989））。また上記手法では、微粒子が含まれる液滴が外気にふれるため完全な非接触で微粒子を分離することはできない。それゆえ、微粒子を壊さずに、非接触で分離する方法が望まれていた。

【0004】 本発明は上記事情に基づいてなされたものであり、微粒子を壊さずに、非接触で分離することができる微粒子の分離方法を提供することを目的とするものである。

【0005】

【課題を解決するための手段】 上記の目的を達成するための本発明に係る微粒子の分離方法は、異なる微粒子あるいは細胞（以下、細胞等も含めて微粒子と称す。）を含む溶液が一定流量で流れている流れ系において、集光

2

したレーザビームを微粒子に照射し、微粒子をレーザの出射方向の光軸上に一列に並ぶように移動させ、ビームウエスト付近で散乱光強度を計測することにより、流れてきた個々の微粒子の違いを判別し、その結果、所望の微粒子である場合には、該微粒子が分離容器近くに流れてきたときに、別の集光されたレーザビームを該微粒子に照射することにより、該微粒子を特定の分離容器の方向に流れ込ませ、異なる微粒子から所望の微粒子を分離することを特徴とするものである。

10 【0006】

【作用】 本発明は上記の構成によって、集光したレーザビームを微粒子に照射して微粒子を一列に整列して移動させ、各微粒子の散乱光強度を計測することにより、たとえば微粒子の粒径を判断し、その判断に応じて、所望の微粒子の移動方向を変えることができる。したがって、完全な非接触で所望の微粒子を確実に分離することができる。

【0007】

【実施例】 以下、本発明の一実施例を図面を参照して説明する。図1は本発明の一実施例である微粒子の分離方法を説明するための図である。

【0008】 本実施例の微粒子の分離方法に使用される装置は、図1に示すように、セル1と、三個のレーザと、集光レンズ5、6、8と、分離容器A、Bとを備えるものである。セル1は上下面及び側面すべてガラス製の流路形状をもつ。微粒子3を含む溶液は左上に設けた一つの入口2からセル1内に流れ込まれ、粒径が判断された後、仕切り板10で分けられた流路を通じて二つの分離容器A、Bのいずれかに流入する。分離容器Aは所望の粒径を有する微粒子を入れるものであり、分離容器Bはその粒径と異なる粒径の微粒子を入れるものである。

【0009】 一般に、微粒子を非接触で分離するためには、分離する微粒子を含んだ溶液がガラス等で覆われたセル内を流れている状態で微粒子の粒径や質量等を識別し、分離することが望ましい。この微粒子を分離するためには、微粒子を押して微粒子の流れの方向を変えて分けることが考えられ、微粒子を押す手段としては、水流あるいは空気圧や光の圧力が挙げられる。微粒子が光の圧力によって押される現象については、分献（A. Ashkin: Phys. Rev. Lett., 24, 156（1970））に報告されており、光が微粒子内を屈折して通過する際の運動量変化によって生じるものである。微粒子を押す手段として、水流を利用する場合には渦の発生による流れの乱れの問題があり、また空気圧を利用する場合には、泡の発生及び泡の混入の影響があるため、光を用いて分離することが望ましい。

【0010】 このため、本実施例では、微粒子3を直進させたり、微粒子3の流れの方向を変えるために、レーザビーム4、7、9を使用している。

(3)

特開平4-370089

3

【0011】次に、本実施例において、所望の粒径を有する微粒子を分離する方法を説明する。まず、入口2より粒径等の異なる微粒子3を一定流量あるいは一定流速で流し込む。微粒子3が位置3aに来ると、左側から放射されたレーザービーム4はレンズ5で集光され、セル1のガラス側面を通過して微粒子3に照射する。微粒子3は集光されたレーザービーム4による光の圧力を受けて、レーザービーム4の光軸L上に引き寄せられて一列状になって光軸L上をビームウエスト3bの方向に移動する。

【0012】また、ビームウエスト3b付近では、微粒子3は特に明確にミー散乱 (Mie scattering) を起こすことがわかる。ミー散乱強度は、微粒子3の粒径等で決まるものであるため、レーザービーム4の光軸Lに垂直な方向に設置したフォトダイオード等で、上記ミー散乱強度を計測し、微粒子3の粒径の情報を得る。

【0013】必要とする粒径を持った微粒子である場合には、微粒子3がビームウエスト3bの位置より下流にあるレーザービーム4の光軸L上の位置3cへ流れてきたときに、別のレーザービーム7を集光レンズ6で集光したビームを微粒子3の流れ方向と垂直な方向（図1では下方向）から微粒子3に照射する。集光されたレーザービーム4、7による光の圧力によって微粒子3の流れる方向は変わり、微粒子3は位置3eの方向に流れる。セル1においては仕切り板10があるため、微粒子3は、分離容器Aに通じる矢印11の方向へ流れ込む。

【0014】また、上記計測して得た粒径の情報から必要とする微粒子でない場合には、レーザービーム7と集光レンズ6による集光ビームを照射せず、位置3cよりも下流にあるレーザービーム4の光軸L上の位置3dに微粒子3が達したときに、レーザービーム9と集光レンズ8による集光ビームを上方向から照射して位置3fの方向に微粒子3を流す。この場合、微粒子3は分離容器Bに通じる矢印12の方向に流れ込む。

【0015】以上のようにレーザービーム4の光軸Lに対して図1のように互いに反対の位置にあるレーザービーム7及び集光レンズ6とレーザービーム9及び集光レンズ8のうち一方の集光したレーザービームのみを微粒子3に照射することにより、微粒子3の流れ方向を変え、所望の

4

粒径を有する微粒子を確実に分離することができる。

【0016】また、このような流れ系において集光された光の圧力を利用した分離方法では、微粒子3が浮遊した状態で分離するため、たとえ壊れ易い細胞等でも、損傷なく容易に分離することができる。

【0017】微粒子として壊れ易い細胞等を用いる場合、使用するレーザーの波長としては、細胞の光の波長に対する吸収特性を考慮した範囲内であればよい。また、光出力は細胞を死滅させない範囲の出力を与える必要があり、約数mW～数十mWである。この場合にはレーザービームには、高効率、長寿命、安定である半導体レーザーを用いてもかまわない。本発明者等は、波長790nm、光出力25mWの半導体レーザーを使用し、NA（開口角）=0.4程度の集光レンズ5、6、8を用いて集光したレーザービームを、粒径数μサイズのポリスチレンラテックス粒子に照射することにより、この粒子をレーザービームの圧力で押し、本方法で所望の粒径を有する微粒子だけを容易に且つ精確に分離することができた。

【0018】

【発明の効果】以上説明したように本発明によれば、微粒子を含んだ流れ系においてガラス越しに集光されたレーザービームを用い、溶液に浮遊した状態の微粒子を分離するため、完全な非接触で微粒子を確実に分離することができ、しかも壊れ易い細胞等の微粒子であっても壊すことなく分離することができる微粒子の分離方法を提供することができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の一実施例である微粒子の分離方法を説明するための図である。

【符号の説明】

- 1 セル
- 2 セルの入口
- 3 微粒子
- 4, 7, 9 レーザービーム
- 5, 6, 8 集光レンズ
- 10 仕切り板
- 11 分離容器Aへの流れの方向を示す矢印
- 12 分離容器Bへの流れの方向を示す矢印

(4)

特開平4-370089

【図1】

